

新規免疫抑制剤 FTYT720 の作用及び作用機序の免疫学的研究

著者	神波 力也
号	1664
発行年	2000
URL	http://hdl.handle.net/10097/22003

氏 名（本籍）	かん 神	は 波	りき 力	や 也
学 位 の 種 類	博	士	（医	学）
学 位 記 番 号	医	博	第	1664 号
学位授与年月日	平	成	12 年	3 月 23 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻			
学 位 論 文 題 目	新規免疫抑制剤 FTYT720 の作用及び作用機序の 免疫学的研究			
	(主 査)			
論 文 審 査 委 員	教授	里 見	進	教授 佐々木 毅
	教授	菅 村	和 夫	

論 文 内 容 要 旨

新規開発中の合成免疫抑制剤 FTY720 は、末梢血中のリンパ球、特に T リンパ球を速やかかつ劇的に減少させ、移植片への T リンパ球の浸潤を抑制することによって移植臓器の生着を著しく延長させる。しかし、FTY720 の作用及び作用機序については依然として不明な部分が多い。そこで、まず T リンパ球の産生のである胸腺に対する FTY720 の作用を検討し、次に、近年注目を浴びている NK-T 細胞や NK 細胞に対する作用を検討した。本研究では、これらの点について検討することにより、FTY720 の作用およびその作用機序の解析を試みた。

まず、FTY720 が T リンパ球産生のである胸腺にどのような作用を及ぼすのかを、BALB/c マウスに FTY720 (1mg/kg) を連日 (1-20 日間) 腹腔内投与して調べた。すると、これまでの報告同様、連投した場合も末梢血において T リンパ球が選択的かつ著明に減少した。胸腺においては、長期間連日投与により、成熟胸腺細胞 ($CD4^+CD8^-$ および $CD4^-CD8^+$) の割合が 3-4 倍に増加し、ダブルポジティブ ($CD4^+CD8^+$) 細胞の割合が減少した。表現型の解析 (TCR- $\alpha\beta$, H-2K^d, CD44, CD69, CD24) では、これらの増加した細胞は recent-thymic-emigrants と同じ表現型を示し、さらに末梢リンパ節へのホーミングレセプターである CD62L (L-selectin) を強く発現していた。組織学的解析では、髄質領域が相対的に拡大し、皮質髄質の境界が不明瞭となっており、髄質の細胞密度が増大していた。拡大した髄質には CD62L 陽性細胞が集積していた。一方、胸腺細胞の細胞死の割合は増加していなかった。胸腺細胞を intrathymic injection 法を用いて FITC で直接標識したところ、FTY720 投与群において、末梢リンパ節および脾臓で検出される FITC 陽性細胞は対照群の 4 分の 1 に減少していた。また生後 9 日齢の新生仔マウスに連日 9 日間 FTY720 を腹腔内投与したところ、胸腺においては、成獣同様、CD62L を強く発現する $CD4^+CD8^-$ および $CD4^-CD8^+$ リンパ球の増加が認められ、末梢 (脾臓、リンパ節) においては、T リンパ球の比率が激減した。以上の結果から、FTY720 の免疫抑制剤としての作用メカニズムの一つとして、胸腺から末梢への T リンパ球の移出阻害が示された。

次に C57BL/6 マウスを用いて NK および NK-T 細胞に対する FTY720 の作用を調べた。FTY720 (1mg/kg) を経静脈的に単回投与したところ、これまでの報告同様、FTY720 は末梢血中の単核球、 $CD3^+$ 細胞、 $CD4^+$ 細胞、 $CD8^+$ 細胞、および $B220^+$ 細胞の有意な減少を引き起こしたが、 $NK1.1^+$ 細胞 (末梢血ではもっぱら NK 細胞) には有意な変化を誘導しなかった。そこで、NK あるいは NK-T 細胞が豊富に存在することがわかっている脾臓、肝臓に対する FTY720 の効果を調べた。脾臓の NK 細胞は FTY720 投与により明らかな変化を認めなかった。肝臓で

は、FTY720 投与により $CD3^+NK1.1^-$ の T 細胞は有意に減少したが、 $CD3^-NK1.1^+$ の NK および $CD3^+NK1.1^+$ の NK-T 細胞に有意な変化を認めなかった。これらの結果から、FTY720 は末梢血および肝臓において T リンパ球の選択的で著しい減少を誘導するが、NK および NK-T 細胞の分布や移動に対しては作用しないことが明らかとなった。また、FTY720 はラットにおいて、心、肝、腎、皮膚などの移植臓器の生着を、用量依存的に著しく延長させるので、NK および NK-T 細胞は皮膚、心臓、腎臓、あるいは肝臓といった実質臓器の移植片拒絶においては重要な役割を担っていない、ということが推察された。

本研究では、免疫抑制剤 FTY720 の作用及び作用機序の検討を行い、胸腺から末梢への T リンパ球の移出の阻害を初めて明らかにした。この阻害効果は FTY720 の免疫抑制剤としての作用メカニズムの一つと考えられる。また、この研究結果は、これまで明かとなっていない T リンパ球の胸腺からの移出動態解明の手がかりにもなると思われる。

更に、FTY720 が NK および NK-T 細胞の組織分布や再循環・移動に対して作用しないことも今回初めて示された。このことは、移植片拒絶における NK および NK-T 細胞の役割について、一考を与えるであろう。

審 査 結 果 の 要 旨

リンパ球は生体の防御システムにおいて中心的な役割を担っており、効果的な防御のためには、リンパ球が血液とリンパ器官の間を循環し持続的な監視機構を確立していることが必要不可欠であると考えられている。今日、接着分子やケモカインの発見によりそのメカニズムの一部が明らかにされてきているが、未だ不明の点が残されている。

本研究において筆者は新規開発中の免疫抑制剤 FTY720 を用いてリンパ球循環動態に関する興味深い知見を示した。FTY720 はラット、犬、マウスにおいて移植臓器の生着を用量依存的に著しく延長させ、その機序としてリンパ球のホーミングの促進という説が報告されている。本研究はこの点をふまえ、(1) T リンパ球産生のある場である胸腺への FTY720 の作用、特に胸腺リンパ球の移出に対する作用、(2) T および B リンパ球以外のサブセットとして近年注目されている Natural Killer (NK) 細胞および NK-T 細胞の循環動態に対する FTY720 の作用、について免疫学的解析を行いリンパ球循環のメカニズム解明を行ったものである。

その結果、筆者は以下の事を明らかにした。

胸腺においては、FTY720 連投により成熟胸腺リンパ球が増加し、胸腺から血中への出口が存在すると考えられている胸腺髄質領域に集積する。これら増加する細胞は TCR- $\alpha\beta^{\text{hi}}$, H-2K $^{\text{hi}}$, CD69 $^+$, CD44 $^{\text{lo}}$, CD24 $^{\text{lo}}$ で recent-thymic-emigrants と同じ表現型であり移出可能な細胞であることを示した。更に胸腺リンパ球を直接蛍光標識し、胸腺リンパ球の末梢リンパ器官（リンパ節および脾臓）への移出能を測定するという高度な技法を用いて、FTY720 処理マウスでの胸腺リンパ球の末梢への移出の著明な減少も明らかにした。従って、FTY720 の作用の一つとして胸腺から末梢への T リンパ球の移出の阻害ということが示された。

次に、FTY720 が末梢血の T リンパ球や肝臓の CD3 $^+$ NK1.1 $^-$ T 細胞を有意に減少させるのに対し、末梢血、脾臓、肝臓の NK 細胞および肝臓の NK-T 細胞に有意な変化を誘導しないことから FTY720 は NK および NK-T 細胞の組織分布や再循環・移動に対して作用しない事も明らかとなった。

以上、本研究は、FTY720 の作用および作用機序に関して新しい知見を提供したのみならず、今後、FTY720 の作用メカニズムを更に解析することで、成熟した胸腺リンパ球が胸腺からどのように、またどのような分子的メカニズムで血流へ流出しているのか、NK および NK-T 細胞はどのような分子的メカニズムで再循環・移動しているのか、を解明する手助けになることが期待されることより、学位に十分値するものと判断される。